

## 淡水魚のビタミンAの吸収およびビタミンA<sub>2</sub>の生成 機作に関する研究

著者	秦 満夫
号	31
発行年	1968
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/12582">http://hdl.handle.net/10097/12582</a>

氏 名 (本籍)	はた 秦	みつ 満	お 夫 (東京都)
学 位 の 種 類	農	学	博 士
学 位 記 番 号	農	第	3 1 号
学位授与年月日	昭和 4 3 年 7 月 1 1 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
最 終 学 歴	昭和 2 0 年 9 月 東京帝国大学農学部卒業		
学 位 論 文 題 目	淡水魚のビタミン A の吸収およびビタミン A <sub>2</sub> の生成機作に関する研究		
論文審査委員	(主 査) 教授 土 屋 靖 彦	教授 小 柳 達 男	教授 金 田 尚 志

# 論文内容要旨

ビタミンA（以下VAと略称）については従来多数の研究がなされて来たがとりわけその合成の研究は目ざましく、今日医薬品としての価値が著しく高められていることは周知の通りである。しかしながら肝腎の生理的役割については意外に知られるところが少い。一方魚類はVAを高濃度を含むものが多く、生物界におけるVAおよびその関連物質の連鎖の重要な一環をなしているが、これまでその代謝については非常に研究が少い。

また淡水魚には自然界にも稀なVA<sub>2</sub>が多く存在し、比較生化学的に注目を引いているに拘らずその起源については殆んど不明である。

本研究においては、フナを主とする淡水魚を使用して、魚類におけるVAの吸収、蓄積がいかにあるかを明らかにするとともに、淡水魚に存在するVA<sub>2</sub>の前駆物質を明らかにしようとした。

以下、著者が明らかにし得た事項を列挙する。

## 1) VAの体内分布

フナ、コイ、ナマズおよびライギョについて概念的なVA<sub>1</sub>およびVA<sub>2</sub>の体内分布について調査を行った（第1表）。

第1表 フナ、コイ、ナマズおよびライギョ体各部のVA含量（mg %）

魚 種	フナ22.0 cm 263 g		コイ18.5 cm 194 g		ナマズ17.9 cm 495 g		ライギョ37.5 cm 453 g	
VA	VA <sub>1</sub>	VA <sub>2</sub>	VA <sub>1</sub>	VA <sub>2</sub>	VA <sub>1</sub>	VA <sub>2</sub>	VA <sub>1</sub>	VA <sub>2</sub>
体各部								
肝臓または 肝脾臓	12.6	13.3	2.4	5.4	0.6	4.5	0.6	41.4
眼 球	9.1	47.7	2.4	5.8	—	0.03	—	0.5
生殖巣	0.1	0.2	0.5	0.7	0.02	0.2	—	0.3
貯蔵脂肪			0.2	0.4			—	0.5
消化管	0.2	0.2	0.3	0.2	—	0.06	—	0.5
肉	0.1	0.3	0.1	0.1	—	—	—	0.03
心 臓	1.4	0.9	1.3	1.2	—	—	—	0.2
脾 臓	0.7	0.5	2.7	0.4	0.08	0.8	—	0.5
腎 臓	0.7	0.6	0.4	0.3	0.03	0.4	—	0.4
胃					—	0.03	—	0.1
血 液	0.2	0.3						

まずフナではVAは大部分が肝臓と眼球に存在し、その濃度は体長の大きい方がやゝ高い。雌雄による差は明らかでなかった。存在する形はほとんどがエステル型で、哺乳類と同様である。

コイはフナよりVA含量は低いが、フナ同様眼球に相当量のVA<sub>1</sub>およびVA<sub>2</sub>が存在する。

ライギョおよびナマズは、肝臓に圧倒的にVAを多く含むに反し、眼球には非常に少い。またVA<sub>2</sub>が圧倒的に多く、特にライギョではほとんどVA<sub>2</sub>のみである。

## 2) 餌料に混ざる飼育実験

フナ、キンギョ、コイ稚魚にVA<sub>1</sub>を混じった餌料を投与してその蓄積の傾向をみた。その結果、投与したVA<sub>1</sub>が肝臓に蓄積されることを認めた。蓄積は主としてVA<sub>1</sub>としてなされるが、一部は特に幼少なキンギョの実験では相当量のVA<sub>2</sub>の増加を認めた。また藻類の繁殖した水中で飼育したフナでVA<sub>1</sub>およびVA<sub>2</sub>の増加が認められたので、そのカロテノイドを抽出して投与する実験を行ったが、明瞭な結果は得られなかった。

## 3) 腹腔内注射およびカテーテル投与

フナに対し腹腔内注射およびポリエチレンカテーテルを用いる消化管内注入によるVA<sub>1</sub>の投与方法を吟味した結果VA<sub>1</sub>の肝臓への効率のよい蓄積を認めた。

## 4) 投与条件と蓄積

3)の方法でVA<sub>1</sub>を投与し、種々の投与条件が肝臓のVA蓄積効率におよぼす影響をしらべた。VA<sub>1</sub>はアルコール型の方がエステル型よりもよく吸収され、エステル型の中ではアセテートの方がパルミテートよりもよく吸収された。天然VA<sub>1</sub>アセテートと合成VA<sub>1</sub>アセテートとはほぼ同じ結果を得た。またツイーンを使用して水性液にすると、油性液よりもよく吸収された。肝臓その他に蓄積されるVAは投与のVAの型の如何にかゝりなく大部分がエステル型になった。

## 5) 投与VAの体各部への移行とその後の変化

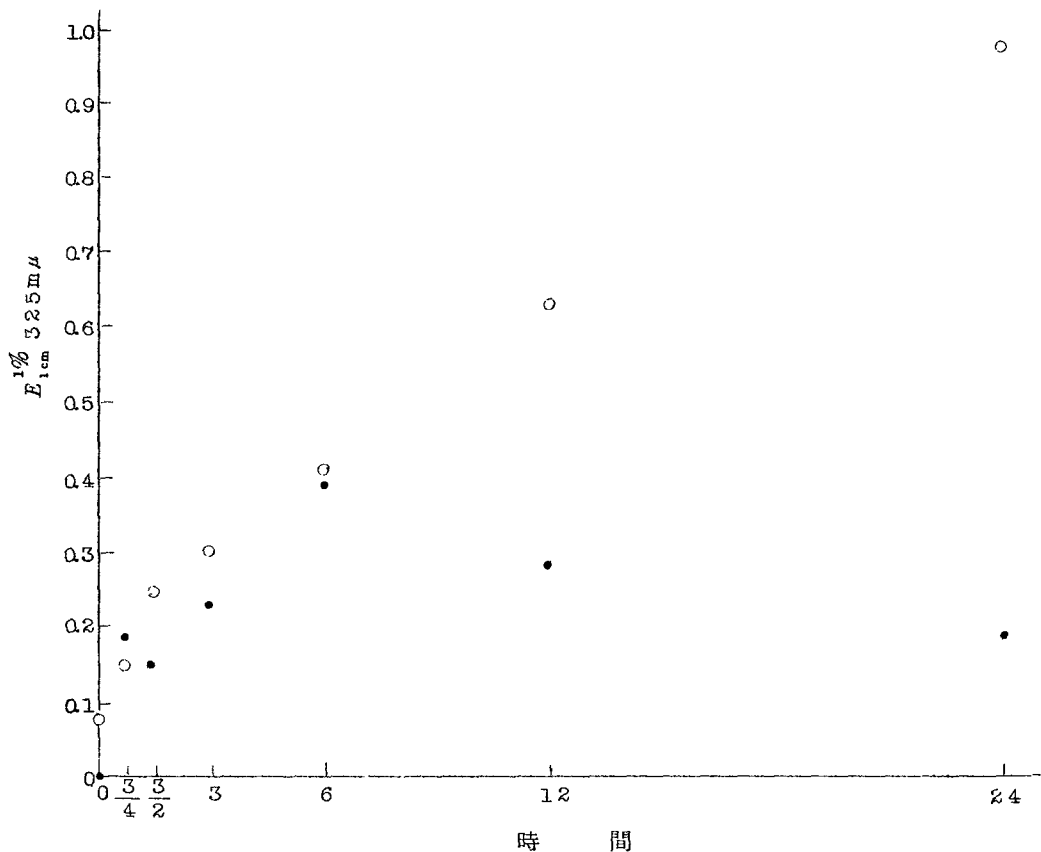
ポリエチレンカテーテルによりフナの消化管内に注入したVA<sub>1</sub>は、肝臓のみならず、消化管、脾臓、腎臓、筋肉、卵巣など広く体各部に移行する。それに対し眼球のVA量は一般に変化が少い。

体長により大(22.4cm)、中(14.2cm)、小(9.0cm)の三区に分けて見ると大型魚で42.3%、中型魚25.8%、小型魚で11.2%の移行率を示し、大型魚程吸収がよいと考えられた。この点哺乳類の結果と一致して甚だ興味がある。又各部への移行の程度も体長により異なり、魚体の大小すなわち恐らく年齢によりVAの吸収蓄積の様相が異なるものと考えられる。

体各部に蓄積されたVAのその後の推移をしらべたところ±0日の試験期間中、肝脾臓は増量を続けたが、眼球ではほとんど変わらず、その他の各部位はそれぞれ異なる時期に最高となつてのち減少し、40日後にはほぼ旧に復した。

VA<sub>1</sub>投与後の血液および肝脾臓のVA濃度の24時間までの経時変化をコイを使用してしらべた(第1図)。

肝脾臓濃度は投与後45分ですでに相当の増加が認められ、以後終始増加を続ける。血液中のVA濃度は、投与前ほとんど0であったものが、急増して6時間後に最高濃度に達し、その後漸減するが、24時間後にもなおかなりの濃度を保っていた。



第1図 VA<sub>1</sub>アルコール投与コイの血液(●)および肝脾臓(○)エーテル抽出物についての  $E_{1\text{cm}}^{1\%} 325\text{m}\mu$ の経時変化

## 6) VAアルコールのエステル化およびVAエステル加水分解

VA<sub>1</sub> アルコールまたはそのエステルにフナの肝臓または消化管のホモジネートを加えてそれらのエステル化又は加水分解が如何に行われるかを見たところ、エステラーゼ作用すなわちVA<sub>1</sub> エステルのアルコールへの加水分解が認められた。その至適pHは7.0付近である。しかしながらVA<sub>1</sub> アルコールのエステル化作用は認められなかった。

## 7) ライギョによる投与VA<sub>1</sub>のVA<sub>2</sub>への転化

これ迄の実験において、VA<sub>1</sub>のVA<sub>2</sub>への転化の有無を、紫外外部吸収の変化や、VA<sub>1</sub>、VA<sub>2</sub>量の変化などから吟味して来たがそれを確認するには到らなかった。こゝで改めて次のような実験を行った。

まず自然状態で体内にほとんどVA<sub>2</sub>のみをもつライギョに対し、VA<sub>1</sub>アルコールおよびアセテートのカテーテル投与を行い、一定時間後にその肝臓のVA<sub>1</sub>、VA<sub>2</sub>濃度を定量した。その結果無投与魚はVA<sub>1</sub>、0—2.18mg%、VA<sub>2</sub>、27.6mg%—99.45mg%に対し、VA<sub>1</sub>アルコール投与区ではVA<sub>1</sub>、2.14mg%—7.28mg%、VA<sub>2</sub>、45.7mg%—135.9mg%、VA<sub>1</sub>アセテート投与区ではVA<sub>1</sub>、7.21mg%—20.34mg%、VA<sub>2</sub>、100.07mg%—176.22mg%であった。

この結果で明らかなように、VA<sub>2</sub>が相当量増加したことが明らかになった。特に無投与魚とVA<sub>1</sub>アセテート投与魚肝臓のVA<sub>2</sub>濃度の間には危険率1%以下で有意差があり、ライギョでは体内でVA<sub>2</sub>がVA<sub>1</sub>に転化することを遂に明らかにした。

## 8) in vitroでのβ-カロテンのVAへの転化

さきにキンギョの飼育実験でβ-カロテンからVA<sub>1</sub>およびVA<sub>2</sub>の生成を示唆する結果を得たので、これをin vitroで証明する目的で以下のような実験を行った。β-カロテンとナマズおよびライギョ肝臓のホモジネートとをあわせて37℃に放置する。但し対照には海産魚のサンマおよび哺乳類のシロネズミの肝臓を用いた。実験中副次的に生成するシス-β-カロテンその他、紫外外部吸収を有する妨害物質の影響を計算により近似的に除去すると、紫外外部吸収増加曲線は、ライギョおよびナマズではVA<sub>2</sub>のそれに近く、サンマおよびシロネズミではVA<sub>1</sub>のそれに近かった。すなわちβ-カロテンはこれらの動物ではプロVAとなるものと考えられる。また動物によって生成するVAの種類が異なってくる可能性のあることを認めた。

## 9) <sup>14</sup>C-VA<sub>1</sub>アセテート投与による放射性VA<sub>2</sub>の生成

さらに直接VA<sub>1</sub>が魚体内でVA<sub>2</sub>に転化することを明らかにするため<sup>14</sup>C-VA<sub>1</sub>アセテートをフ

ナおよびライギョにポリエチレンカテーテルによって消化管内に投与したところ、さきの5)の実験で示したと同様に広く体各部に移行することを認めた(第2表)。

第2表  $^{14}\text{C}$ -VA<sub>1</sub> 投与フナ体各部の c. p. m

器 官	重 量 g	エーテル抽出物量 mg	c. p. m(%)	比放射能 c. p. m/g
肝脾臓	1.8948	64.0	145,000(40.6)	76,500
腎 臓	0.8256	12.3	37,300(10.5)	45,200
脾 臓	0.3614	3.9	21,300(5.9)	58,900
消化管	3.2172	51.1	119,000(33.4)	37,100
卵 巢	14.6621	51.55	30,400(8.5)	2,070
眼 球	3.6535	22.2	2,610(0.7)	714
計			355,610(100)	

さらにフナの肝脾臓、消化管および眼球、ライギョの肝臓、消化管および幽門垂のVA<sub>1</sub>区とVA<sub>2</sub>区に分別し、その放射能を測定したところ、投与したVA<sub>1</sub>が一部魚体内でVA<sub>2</sub>に転化することを確認した(第3表)。

第3表  $^{14}\text{C}$ -VA<sub>1</sub> 投与フナ、各部各区の c. p. m

		c. p. m	投与量に対する%
肝脾臓	エーテル抽出物	506,000	10.6
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	55,400	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	7,970	
消化管	エーテル抽出物	252,000	5.3
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	24,500	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	1,700	
眼 球	エーテル抽出物	37,900	0.8
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	2,570	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	4,600	

フナでは眼球以外はVA<sub>1</sub>区の方に多くの放射能が検出されたが、ライギョでは各部位共にVA<sub>2</sub>区の方に多くの放射能が検出された。

#### 10) $^{14}\text{C}$ - $\beta$ -カロテン投与による放射性VA<sub>1</sub> およびA<sub>2</sub>の生成

次に $^{14}\text{C}$ - $\beta$ -カロテンを上と同様にフナおよびライギョに投与しその放射能の、フナ肝脾臓および消化管、ライギョ肝臓、消化管および幽門垂のVA<sub>1</sub>区、VA<sub>2</sub>区への移行の有無をしらべた。但

し<sup>14</sup>C-β-カロテンは<sup>14</sup>C-醋酸ソーダを添加した培養地 *Phycomyces blakesleeans* を培養し生成させて得たものである。その結果微量ではあるが、投与したβ-カロテンが魚体内でVA<sub>1</sub> またはVA<sub>2</sub> に転化して各部位に移行したことを確認した（第4表）。

第4表 <sup>14</sup>C-β-カロテン投与フナ肝脾臓、消化管、各区のc. p. m

		c. p. m	投与量に対する%
肝 脾 臓	β-カロテン区	318	0.51
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	149	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	135	
消 化 管	β-カロテン区	6,334	10.56
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	278	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	172	

またVA<sub>1</sub> 投与の場合と同様にフナとライギョでは生成するVAのA<sub>2</sub>/A<sub>1</sub> が異なり、ライギョではVA<sub>2</sub> を多く生じ、フナではVA<sub>1</sub> を多く生じた。従ってVA<sub>1</sub>、VA<sub>2</sub> の生成度合は魚種により特徴のあることが明らかである。

#### 11) in vitroでの<sup>14</sup>C-β-カロテン放射性VA<sub>1</sub> およびA<sub>2</sub>への転化

同じく<sup>14</sup>C-β-カロテンをフナの肝脾臓または消化管、ライギョの肝臓または消化管と共に作用させるin vitroの実験を行い、各部位共に微量ではあるが、放射性VA<sub>1</sub> およびA<sub>2</sub>の生成を認めた（第5表）。

第5表 フナでのin vitroの実験各部各区のc. p. m

		c. p. m	添加量に対する%
肝 脾 臓	β-カロテン区	314,900	62.8
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	128	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	60	
消 化 管	β-カロテン区	75,200	44.9
	アンヒドロVA <sub>1</sub> 区	118	
	アンヒドロVA <sub>2</sub> 区	35	

またこの際にも両魚種で放射性のVA<sub>2</sub>/VA<sub>1</sub> は異なりライギョの方がこの値が大きかった。

以上の如く<sup>14</sup>C標識化合物を用いる実験によって、フナおよびライギョは投与されたVA<sub>1</sub> を一部VA<sub>2</sub> に、β-カロテンを一部VA<sub>1</sub> またはVA<sub>2</sub> に転化させることを確認した。又魚種によりそ



の生成される  $VA_1$  と  $VA_2$  の比が異なり、天然で  $VA_1$  と  $VA_2$  をそれぞれかなり多く含むフナよりは天然でほとんど  $VA_2$  のみをもつライギョの方がより多く  $VA_2$  を生成することを認めた。すなわち魚種によって同じプロVAが異なるVAを生成することを実証した。

以上の研究を通じて従来ほとんど不明であった魚類のVAの吸収、蓄積などの生理機作について多くの新知見を得た。それとともに淡水魚は  $VA_1$  および  $\beta$ -カロテンを  $VA_2$  に転化させることをここに始めて証明した。

## 審 査 結 果 の 要 旨

魚類は一般にビタミンA (VA と略記) を高濃度に関し生物界におけるVAとその関連物質の連鎖の重要な一環をなしている。また淡水魚には自然界に稀なVA<sub>2</sub>を多く含み注目されているが、これらVAの代謝および来源については従来研究が非常に少く、多くは不明のままである。本研究は淡水魚におけるVAの吸収について詳細な研究を行うとともに、14c-VA<sub>1</sub> および14c-β-カロテンを用いてその生成機作を一部明かにしたものである。

先ず淡水魚のVAの体内分布を調査して、フナでは肝臓と眼球に、コイでは眼球に、ライギョとナマズでは肝臓にそれぞれ多量が蓄積することを見た。それらは何れもVA<sub>2</sub>を多く含み、特にライギョでは殆どがVA<sub>2</sub>であるという特異性を見出した。VAはまたエステル型で存在するものが多いこと、体長の大きいものが蓄積量の多いことなども知った。

次に主としてフナについてVA<sub>1</sub>の飼育試験、腹腔内または消化管内注入試験を行った結果、VA<sub>1</sub>は肝臓へよく蓄積すること、大型魚が吸収のよいこと、遊離型がエステル型より吸収のよいこと、但し一旦吸収した後は型の如何を問わず大部分がエステル型となること、パルミテートよりアセテートが吸収し易いこと、油性液より水性液の方がよく吸収されること、さらに合成VAは天然のそれとともに良く吸収されることなどを明かにした。

VAが魚体の各部へ吸収移行する速度は器官によって違い、肝臓および血管へは45分後既に相当量が移行し、前者では40日の期間中絶えず増加するのに対し、後者は6時間後に最高となり以後漸減することを見た。他器官もそれぞれ異った時に最高になった後減少し、40日後にはほぼ旧に復した。

次に14c-VA<sub>1</sub> アセテートの消化管内注入試験を行って、それがVA<sub>2</sub>へ変じて各器官に蓄積することを見出した。ここに始めてVA<sub>2</sub>の来源は一部はVA<sub>1</sub>によっていることが実証された。これはライギョについても同様であったが、さらに14c-β-カロテンによる試験を行い、それがVA<sub>1</sub>とVA<sub>2</sub>の両方へ転換することを見出した。但しフナではVA<sub>1</sub>を、ライギョではVA<sub>2</sub>をより多く生じた。さらにこの転換はそれぞれの肝臓、肝臓または消化管ホモジネートとの処理による *in vitro* での試験においても可能であることを証明した。

以上本研究によって淡水魚のVAの吸収および蓄積に関する幾多の新知見を得たこと並びにVA<sub>2</sub>の来源がVA<sub>1</sub>およびβ-カロテンによるものであることを始めて実証した意義は大きく、水産化学および水産生物学上価値ある研究として農学博士の学位を与えるに十分な資格あるものと認定した。